

Die Adenosin-Nukleotide im Fettkörper des adulten Weibchens von *Leucophaea maderae* im Laufe des Sexualzyklus¹

von

M. LÜSCHER und M. WYSS-HUBER

Abteilung für Zoophysiologie
Zoologisches Institut der Universität Bern

Mit 1 Diagramm.

EINLEITUNG

Die Weibchen der ovoviviparen Schabe *Leucophaea maderae* (F.) machen einen sich regelmässig wiederholenden Sexualzyklus durch (ENGELMANN 1957a). Nach der Adulthäutung werden die Corpora allata aktiv und lösen die Eireifung in den Ovarien aus. Bei der Ovulation gelangen die Eier in den Uterus und bleiben dort, bis die Embryonalentwicklung abgeschlossen ist. Während dieser Phase der Trächtigkeit bleiben die Corpora allata inaktiv. Nach der Geburt, bzw. dem Ausstossen des Eikokons, beginnt der Zyklus von neuem mit einer Eireifungsphase. SÄGESSER (1960) stellte charakteristische, mit dem Sexualzyklus korrelierte Veränderungen des Sauerstoffverbrauchs fest. Den höchsten Sauerstoffverbrauch beobachtete er kurz nach Beginn der Eireifung zu einer Zeit, da die Corpora allata noch nicht ihr grösstes Volumen erreicht haben. Durch Implantation aktiver Corpora allata in kastrierte Weibchen konnte deren Sauerstoffverbrauch signifikant gesteigert werden. Damit waren die Befunde von THOMSEN (1949) bestätigt, die bei

¹ Durchgeführt mit Hilfe eines Forschungskredits des Schweiz. Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung.

Calliphora erythrocephala eine Stimulierung des respiratorischen Stoffwechsels durch die Corpora allata nachgewiesen hatte. Überdies konnte SÄGESSER aus einem Vergleich der Sauerstoffverbrauchskurven des vorletzten und letzten Larvenstadiums zeigen, dass das den oxydativen Stoffwechsel beeinflussende Hormon der Corpora allata nicht mit dem Juvenilhormon identisch sein kann.

Da demnach der mindestens zum Teil durch die Corpora allata gesteuerte Energiestoffwechsel im Sexualzyklus von *Leucophaea* eine wesentliche Rolle spielt, war es von besonderem Interesse zu erfahren, ob die energiereichen Nukleotide im Laufe des Zyklus charakteristische Veränderungen zeigen und ob diese mit der Funktion der Corpora allata in Zusammenhang gebracht werden können. Da für Auf- und Abbaureaktionen des Stoffwechsels vor allem der Fettkörper verantwortlich sein dürfte und da die Hormone der Corpora allata Veränderungen im Fettkörper hervorrufen können (THOMSEN 1942, DAY 1943, PFEIFFER 1945, VOGT 1947), haben wir unsere Untersuchungen vorläufig auf dieses Organ beschränkt. Die vorliegende Arbeit berichtet über den Gehalt des Fettkörpers an Adenosin-Nukleotiden im Laufe des Sexualzyklus.

MATERIAL UND METHODE

Die verwendeten Tiere stammten aus einer Zucht des Zoologischen Instituts Bern. Bei 26°C und ca 85% relativer Luftfeuchtigkeit wurden je 5-6 Weibchen und 1-2 Männchen in 1 Liter-Gläsern gehalten und mit Hundekuchen und Karotten gefüttert (ENGELMANN 1957b). In täglichen Kontrollen wurde der Zeitpunkt der Geburt bestimmt. Für die Versuche dienten fast ausschliesslich Tiere in der zweiten Eireifungs- oder Trächtigkeitsperiode. Wir untersuchten keine Tiere im ersten Zyklus, da dieser im zeitlichen Ablauf mit den folgenden nicht übereinstimmt.

Herstellung der Extrakte. Die Extraktion führten wir im Kühlraum bei 3°C durch. Die Tiere wurden kurz mit Chloroform narkotisiert, das Abdomen ventral längs eröffnet, mit Ringerlösung von 3°C die Hämolymphe weggespült und der ganze Abdominalraum mit Zellstoffwatte sorgfältig getrocknet. Anschliessend wurde möglichst rasch, in weniger als einer Minute, pro Tier ca 100 mg Fettkörper entnommen und in 0.3 ml fassenden Homogenisatoren

mit 0,1 ml einer 0,6 n Perchlorsäure vermischt. Dem Fettkörper hafteten stets einige Tracheenstücke an; allfällig mitgerissene Teile von Malpighi-Gefäßen oder Ovariolen wurden sorgfältig entfernt. Der herauspräparierte Fettkörper wurde in der Perchlorsäure gewogen, während einer Minute homogenisiert und drei Minuten bei 20 000 Umdrehungen zentrifugiert. Das Sediment wurde noch zweimal mit je 0,1 ml 0,4 n Perchlorsäure nachextrahiert und nach dem Zentrifugieren wurden die überstehenden Lösungen jeweils vereinigt.

Chromatographie. Vorversuche zeigten, dass mit Aktivkohle vorgereinigte Extrakte weniger fluoreszierende Verunreinigungen aufweisen und im Chromatogramm eine bessere Auftrennung der Nukleotidfraktionen ergeben als unbehandelte Extrakte. Nach der Methode von THRELFALL (1957) brachten wir deshalb den Perchlorsäureextrakt quantitativ auf 50 mg Aktivkohle Merck p. A. — Celite 535 — (1 : 1) in einer kleinen Säule von 2 mm Durchmesser auf. Die Perchlorsäure wurde mit 6 ml Wasser aus der Säule gewaschen und anschliessend die an die Kohle adsorbierten Nukleotide mit 2 ml 10% Pyridin (Merck, für Chromatographie) eluiert. Die Pyridinlösung wurde im Vakuum bei 50°C zur Trockene eingedampft, der Rückstand in 50 µl Wasser gelöst und davon 20—30 µl für die Chromatographie verwendet.

In den ersten Versuchen stellten wir Durchlaufchromatogramme dieses Extraktes auf Whatman Papier Nr. 1 her. System: Isobuttersäure—Ammoniak—Wasser—(66: 1: 33) (GRAMER 1958), Laufzeit 24—36 Stunden. Der Extrakt trennte sich nur unvollständig in 4—5 im UV absorbierende Flecken auf. Bei den langen Laufzeiten verloren die Flecken zudem an Schärfe.

RANDERATH (1961a, b, 1962) sowie RANDERATH und STRUCK (1961) berichteten über gute Auftrennung von Nukleotiden an nativer Cellulose oder Cellulose-Ionenaustauschern (DEAE, ECTEOLA) im Dünnschichtchromatogramm. Einige Versuche mit ECTEOLA-Schichten zeigten, dass bei nicht völlig ionenfreien Extrakten stets Unterschiede in der Auftrennung von Extrakt und Standardlösung auftreten. Dagegen ergab zweidimensionale Chromatographie an Schichten aus nativer Cellulose sehr gute Resultate. Wir verwendeten mit 0,1 n Salzsäure, 2,5% Ammoniak, Wasser, Äthylalkohol und Chloroform gereinigtes Cellulosepulver MN 300 (Macherey und Nagel, Düren, Deutschland). 10 g Cellulose wurden

mit 50 ml Wasser fünf Minuten kräftig geschüttelt und die Suspension mit dem Streichgerät der Firma CAMAG auf 20×20 cm Glasplatten in einer Dicke von 0,3 mm aufgestrichen. Die angegebene Menge ergibt fünf Platten.

Wir chromatographierten in der ersten Richtung mit Isobuttersäure — Ammoniak — Wasser — (71,0: 1,2: 27,8) = System I, in der zweiten Richtung mit n-Propanol — Ammoniak — Wasser — (5,5: 3: 1,5) = System II. Der Fettkörperextrakt trennte sich dabei in bis zu 25 scharfe, im UV absorbierende Flecken auf.

Bestimmung der Nukleotidkonzentrationen. Im kurzwelligen Licht (Maximum bei 253,7 m μ) einer Hanovia Chromatolite-Lampe wurden die Flecken auf der Cellulose-Schicht markiert, das Chromatogramm auf durchsichtiges Papier kopiert und auf nukleotidfreien Stellen der Schicht für jede Fraktion ein Fleck gleicher Grösse für den Blindwert aufgezeichnet. Rund um Nukleotidflecken und Blindwerte wurde mit einer an die Wasserstrahlpumpe angeschlossenen Kapillare etwas Cellulosepulver weggesogen. Nach Befeuchten mit einem Tropfen 95% Äthylalkohol (Merck, für UV-Spektroskopie) liessen sich die Flecken leicht mit einem feinen Spatel in die Mikrozentrifugengläser überführen. Das Cellulosepulver wurde in 0,3 ml 0,1 n Salzsäure suspendiert, einige Stunden stehen gelassen und anschliessend bei 20 000 Umdrehungen zwei Minuten zentrifugiert. In einzelnen Fällen wurde mit 0,002 n Natronlauge extrahiert. Da ATP* in den Extrakten im Vergleich zu den übrigen Nukleotiden in relativ hoher Konzentration vorhanden war, extrahierten wir die entsprechenden Flecken und Blindwerte mit 0,9 ml 0,1 n Salzsäure oder 0,002 n Natronlauge. Im Zeiss Spektrophotometer M 4 Q II wurden in Quarz-Mikroküvetten (Schichtlänge 1 cm) die Extinktionen der überstehenden Lösungen bei 260 m μ , in mehreren Versuchen auch bei 250 und 280 m μ gemessen.

Die Blindwerte sind über die ganze Fläche des Dünnschichtchromatogramms gleichmässig niedrig. Einzig im Gebiet der fluoreszierenden Lösungsmittelfronten sowie einer ca 3 cm unterhalb der Front von System II auftretenden Fluoreszenzzone erhält man etwas erhöhte Werte, weshalb die Cellulose für die Blindwerte immer möglichst nahe bei den Nukleotidflecken entnommen wurde.

* Abkürzungen: AMP = Adenosin-5'-monophosphat, ADP = Adenosin-5'-diphosphat, ATP = Adenosin-5'-triphosphat.

Identifizierung der Nukleotide. Zur Identifizierung der im Fettkörper vorhandenen Nukleotide verglichen wir deren Laufstrecken mit denjenigen von reinen Substanzen in den beiden Chromatographie-Systemen. Wir berechneten die Quotienten der Extinktionen 250/260 m μ und 280/260 m μ und nahmen UV-Absorptionsspektren in 0,1 n Salzsäure (pH 1) und in 0,002 n Natronlauge (pH 11) auf. Die Vergleichswerte für die reinen Substanzen entnahmen wir den Circulars OR-17 und OR-10 der Pabst Laboratories, Milwaukee, USA, sowie der Tabelle „Properties of Nucleic Acid Derivatives“ der Calbiochem, Los Angeles, USA.

Die bei 260 m μ gemessenen Werte wurden für die Adenosin-Nukleotide auf m μ Mole pro 100 mg Fettkörper umgerechnet. Den molaren Extinktionskoeffizienten von 14,65 für pH 1 erhielten wir aus den von Pabst publizierten Kurven.

Statistische Auswertung. Die statistische Prüfung der Mittelwerte bestimmter Zeitabschnitte erfolgte nach dem t-Test von „Student“. Mittelwerte sind mit der mittleren quadratischen Abweichung angegeben (LINDER 1951). Die eingezeichneten Kurven entsprechen dem gleitenden Durchschnitt.

Kontrollversuche. Die folgenden Experimente dienten der Prüfung der beschriebenen Methode:

- a) Wurde nur Perchlorsäure (0,4 n) auf eine Kohlesäule aufgebracht, dann wie ein Extrakt aufgearbeitet und chromatographiert, so zeigte das Chromatogramm keine im UV absorbierende Flecken.
- b) Verschiedene Mengen einer ATP-Lösung bekannter Konzentration wurden auf eine Celluloseplatte aufgetropft und im System II chromatographiert, anschliessend die Flecken mit 0,1 n Salzsäure wie angegeben extrahiert und die Extinktion bei 260 m μ gemessen. Wie die Tabelle 1 zeigt, lässt sich ATP über einen weiten Konzentrationsbereich beinahe quantitativ aus der Cellulose zurückgewinnen.
- c) Eine bekannte Menge ATP (26,5 m μ Mol) wurde zu einem Perchlorsäureextrakt von Fettkörper zugesetzt, die Mischung wie üblich aufgearbeitet, zweidimensional chromatographiert und ATP, ADP und AMP bestimmt. Parallel wurden im gleichen Extrakt, jedoch ohne ATP-Zugabe, dieselben Nukleotide gemessen. Aus der Differenz: Extrakt + ATP minus Extrakt

ohne Zusatz berechnete sich in 5 Versuchen die Rückgewinnung von ATP zu $69,6 \pm 6,8\%$; berücksichtigt man auch das während des Versuches aus ATP entstandene ADP, so wurden $73,8 \pm 7\%$ zurückerhalten. Die in Extrakten unter konstanten Bedingungen bestimmten Mengen dürften somit rund 70% der im Gewebe enthaltenen Nukleotide darstellen.

TABELLE 1.

Mittelwerte aus 3 Bestimmungen.

Eingesetztes ATP m μ Mol	Zurückgewonnenes ATP % der Ausgangskonzentration
33,2	96,3 $\pm$ 2,31 (2% als ADP)
3,32	94,3 $\pm$ 3,05
1,66	97,3 $\pm$ 3,51
0,41	90,6 $\pm$ 7,64

Zur genauen Kontrolle des Stadiums der Versuchstiere im Sexualzyklus bestimmten wir die Längen der in Ringerlösung herauspräparierten Oocyten in den Ovariolen bzw. der Eier im Kokon. Weiter bestimmten wir das Volumen der Corpora allata nach der von LÜSCHER und WALKER (1963) publizierten Methode; die verwendete Zählkammer hatte eine Tiefe von 0,10 mm.

RESULTATE

ATP und AMP waren in jeder Beziehung mit den reinen Substanzen identisch, während die Extinktionsquotienten 250/260 m μ und 280/260 m μ für ADP etwas vom theoretischen Wert abwichen und auch die Spektren eine schwache Verunreinigung anzeigten.

Abb. 1 gibt die Werte für ATP und ADP während der ganzen Eireifungs- und Trächtigkeitsperiode. Die Werte für AMP sind sehr niedrig: 1—4 m μ Mol pro 100 mg Fettkörper. Sie lassen keine sicheren Veränderungen erkennen und sind deshalb nicht eingetragen. Die gefundenen ADP-Konzentrationen sind ebenfalls klein und zeigen nur geringe Schwankungen ohne Beziehung zum Sexualzyklus. Der Gehalt des Fettkörpers an ATP ist im Vergleich zu AMP und ADP hoch und zeigt eindeutige Veränderungen während

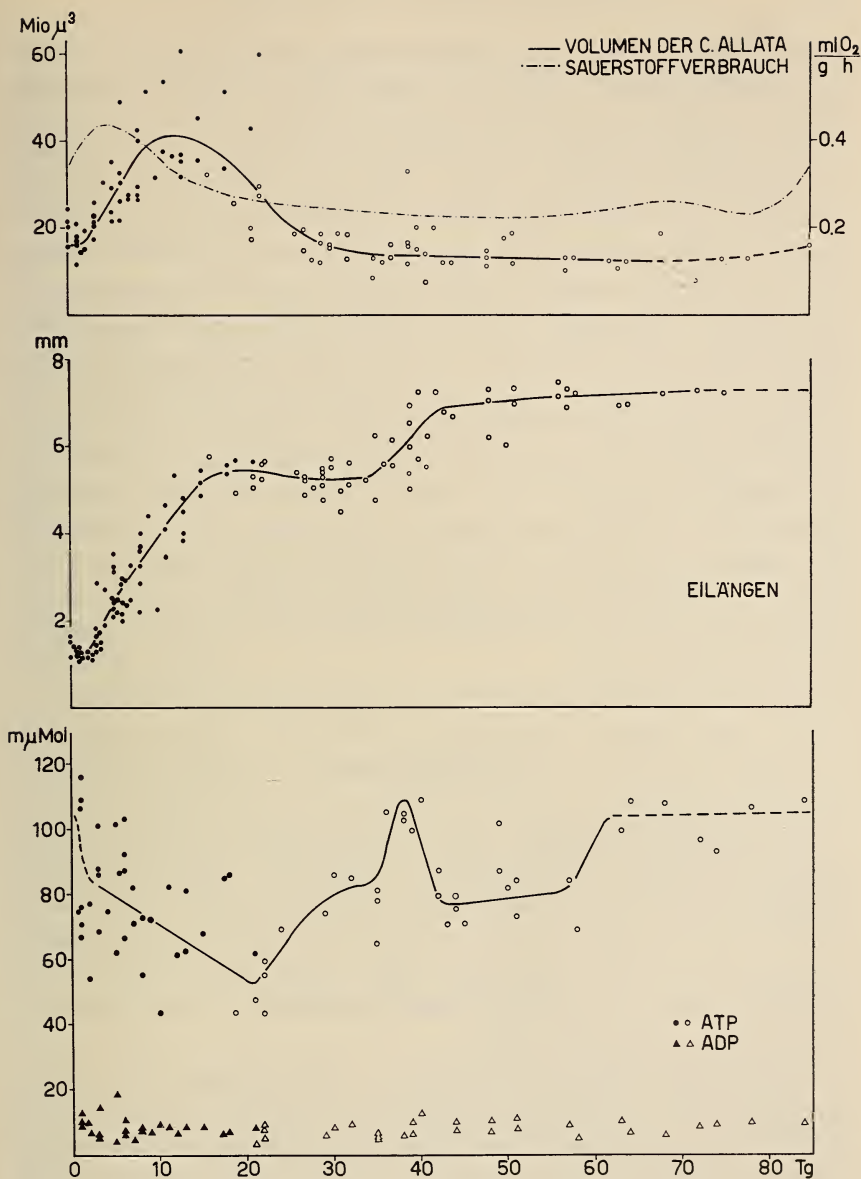


ABB. 1.

Oben: Sauerstoffverbrauch nach SÄGESSER und Corpora allata-Volumen (Punkte); Ordinate: Volumen in Millionen μ^3 und O_2 -Verbrauch in ml pro g Lebendgewicht und Stunde. Abszisse: Tage nach Ablage.

Mitte: Länge der grössten Oocyten in den Ovariolen, bzw. der Eier im Kokon. Ordinate: Länge in mm. Abszisse: Tage nach Ablage.

Unten: Gehalt des Fettkörpers an ATP und ADP. Ordinate: Millimikromole pro 100 mg Fettkörper (Frischgewicht). Abszisse: Tage nach Ablage.

● ▲ vor Ovulation, ○ △ nach Ovulation.

bestimmten Stadien des weiblichen Sexualzyklus. Die relativ grosse Streuung der ATP-Werte innerhalb der Eireifungsperiode dürfte damit zusammenhängen, dass die Dauer dieser Phase von 15 bis 21 Tagen variiert. Trotzdem zeichnet sich am ersten Tag nach der Geburt ein sehr rascher, später ein verlangsamter Abstieg von der hohen ATP-Konzentration am Ende der Trächtigkeitsperiode zu tiefen Werten zur Zeit der Ovulation ab. Während oder kurz nach der Ovulation werden die niedrigsten Werte gemessen. Bis zum 35. Tag steigt die ATP-Konzentration dann langsam an, um in Tieren, deren Eier kurz vor oder nach der Wasseraufnahme stehen (ENGELMANN 1957b), den doppelten Ovulationswert zu erreichen. Nach dem 40. Tag nach Ablage fallen die Werte ebenso rasch zum Niveau des 30.—35. Tages ab. Die Unterschiede der Mittelwerte der vom 19.—22., vom 36.—40. und vom 42.—45. Tag gefundenen ATP-Konzentrationen sind statistisch mit $P < 0,001$ gesichert. Bis gegen den 60. Tag bleibt der ATP-Gehalt des Fettkörpers ziemlich konstant, steigt dann an und bleibt bis zur Geburt auf einem hohen Niveau. Diese letzte Phase ist jedoch erst durch wenige Punkte belegt.

DISKUSSION

Der Insektenfettkörper wird in Bezug auf seine Stoffwechselfunktion oft mit der Säugerleber verglichen. Für diese fanden HOHORST et al. (1959) einen Wert von 3,3 für den Quotienten ATP:ADP. Im *Leucophaea*-Fettkörper ist dieses Verhältnis stark zugunsten des ATP verschoben und entspricht mit rund 10:1 weitgehend dem von SCHMITZ (1964) im ruhenden Flugmuskel der Heuschrecke gefundenen Wert.

Die relativ grossen Änderungen im ATP-Gehalt werden nicht kompensiert durch eine gleichzeitige Zu- oder Abnahme der AMP- und ADP-Konzentrationen. ATP dürfte somit während der Eireifungsphase vollständig abgebaut und im späteren Verlauf des Zyklus neu synthetisiert werden.

Die Veränderungen im ATP-Gehalt während des Sexualzyklus möchten wir wie folgt interpretieren (vergl. Abb. 1): Während der Trächtigkeit benötigt das Insekt nur wenig Energie. In dieser Zeit wird ATP synthetisiert und damit die für die Dotterbildung

während der Eireifungsphase notwendige Energie bereitgestellt. Ganz zu Beginn der Eireifungsphase sinkt der ATP-Gehalt des Fettkörpers stark ab. Dies könnte mit einer zu dieser Zeit sehr aktiven Proteinsynthese im Fettkörper in Zusammenhang stehen, wie sie durch HIGHNAM (1963) bei Heuschrecken nachgewiesen wurde. Kurz darauf erreicht der Sauerstoffverbrauch sein Maximum. Das gespeicherte ATP dürfte infolgedessen zu dieser Zeit als Energiespender an Bedeutung verlieren. Dementsprechend erfolgt das Absinken der ATP-Kurve jetzt langsamer, weist jedoch auf weiterhin ablaufende Synthesevorgänge hin. Nach Abschluss der Dotterbildung zum Zeitpunkt der Ovulation kann das ATP im Fettkörper allmählich wieder aufgebaut werden. Die vorübergehende starke Zunahme des ATP-Gehaltes während der Wasseraufnahme der Eier ist noch ungeklärt. Es besteht allerdings die Möglichkeit, dass es sich hier nur um eine scheinbare, durch eine Entwässerung des Fettkörpers bedingte Zunahme handelt. Da unsere Werte auf das Frischgewicht des Fettkörpers bezogen werden mussten, kann diese Möglichkeit vorläufig nicht ausgeschlossen werden.

Eine Wirkung eines Corpora allata-Hormones auf die Synthese von ATP dürfte nach unseren Ergebnissen möglich sein. Sollte das stoffwechselaktive Corpora allata-Hormon ähnlich wie Thyroxin eine Entkoppelung von Phosphorylierung und Oxydation bewirken (MARTIUS 1954), so wäre dadurch das Absinken des ATP-Gehaltes bei gleichzeitigem Ansteigen des Sauerstoffverbrauchs beim Einsetzen der Hormonproduktion zu Beginn der Eireifungsphase erklärbar.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wird eine Methode zur Bestimmung der Nukleotide im Fettkörper einer einzelnen *Leucophaea* beschrieben. Von den über 20 verschiedenen im UV absorbierenden Fraktionen wurden ATP, ADP und AMP identifiziert und deren Konzentration im Fettkörper im Verlauf des weiblichen Sexualzyklus von *Leucophaea* bestimmt. ADP und AMP sind während der ganzen Zeit in ziemlich konstanten, niedrigen Konzentrationen vorhanden. Der ATP-Gehalt des Fettkörpers sinkt während der Eireifungsphase von einer hohen Konzentration zur Zeit der Kokonablage zu einem Minimal-

wert kurz nach der Ovulation ab. Während der Wasseraufnahme in die Eier ist er stark erhöht und erreicht im letzten Teil des Zyklus ebenfalls hohe Werte. Eine mögliche Beziehung zwischen ATP-Konzentration im Fettkörper, Corpora allata-Aktivität und Sauerstoffverbrauch wird diskutiert.

SUMMARY

A method for determining the nucleotides in the fat body of a single *Leucophaea maderae* is described. Using two-dimensional thin-layer chromatography on cellulose more than 20 UV-absorbing substances could be detected. ATP, ADP and AMP were identified and their concentrations measured during the female sexual cycle. The values for AMP and ADP are low and relatively constant. The ATP-content of the fat body is high at the time of deposition of the ootheca, decreases continuously during the maturation of the oocytes and reaches a minimum shortly after ovulation. The highest ATP-values are found during the uptake of water into the developing eggs. High levels of ATP are also encountered during the last stages of the sexual cycle (cf. Fig. 1).

A possible relationship between ATP-concentration in the fat body, activity of the corpora allata and oxygen-consumption is discussed.

RÉSUMÉ

Une méthode pour la détermination des nucléotides dans le corps gras d'une seule *Leucophaea maderae* est décrite. En utilisant la chromatographie bidimensionnelle sur couche mince nous avons pu démontrer plus de 20 substances qui absorbent dans l'ultraviolet. Nous avons identifié l'ATP, l'ADP et l'AMP et mesuré leur concentration au cours du cycle sexuel des femelles. Les concentrations de l'ADP et de l'AMP sont faibles et relativement constantes. Le corps gras contient un maximum d'ATP au moment de la déposition de l'oothèque. La concentration de l'ATP décroît ensuite pendant la maturation des oocytes et atteint un minimum immédiatement après l'ovulation. Nous avons trouvé les plus hautes valeurs d'ATP pendant la phase d'hydratation des œufs. On remarque aussi une

haute teneur en ATP au cours des derniers stades du cycle sexuel (fig. 1).

La possibilité d'une relation entre la teneur en ATP du corps gras, l'activité des corpora allata et la consommation d'oxygène est discutée.

LITERATUR

- CRAMER, F. 1958. *Papierchromatographie*. 4. Auflage. Verlag Chemie, Weinheim/Bergstrasse.
- DAY, M. F. 1943. *The function of the corpus allatum in muscoid Diptera*. Biol. Bull., Woods Hole 84: 127-140.
- ENGELMANN, F. 1957a. *Die Steuerung der Ovarfunktion bei der ovoviviparen Schabe Leucophaea maderae (Fabr.)*. J. Ins. Physiol. 1: 257-278.
- 1957b. *Bau und Funktion des weiblichen Geschlechtsapparates bei der ovoviviparen Schabe Leucophaea maderae (Fabr.) (Orthoptera) und einige Beobachtungen über die Entwicklung*. Biol. Zbl. 76: 722-740.
- HIGHNAM, C. 1963. *Endocrine effects of crowding and isolation in insects*. Proc. XVI Intern. Congr. of Zoology, Washington 3: 6-7. Die Angabe über die Proteinsynthese zu Beginn der Eireifung wurde im Vortrag gemacht, ist jedoch nicht publiziert.
- HOHORST, H. J., KREUTZ, F. H. und BÜCHER, Th. 1959. *Über Metabolitgehalte und Metabolit-Konzentrationen in der Leber der Ratte*. Biochem. Z. 332: 18-46.
- LINDER, A. 1951. *Statistische Methoden*. Birkhäuser, Basel.
- LÜSCHER, M. und WALKER, I. 1963. *Zur Frage der Wirkungsweise der Königinnenpheromone bei der Honigbiene*. Rev. suisse Zool. 70: 304-311.
- MARTIUS, C. 1954. *Die Wirkungsweise des Schilddrüsenhormones*. In: 5. Coll. der Gesellschaft für physiol. Chemie in Mosbach/Baden, Springer 1955.
- PFEIFFER, I. W. 1945. *Effect of the corpora allata on the metabolism of female adult grasshoppers*. J. exp. Zool. 99: 183-233.
- RANDERATH, K. 1961a. *Dünnschicht-Chromatographie an Ionenaustauscher-Schichten. Trennung von Nukleinsäure-Derivaten*. Angew. Chem. 73: 674-676.
- 1961b. *A comparison between thin-layer chromatography of nucleic acid derivatives*. Biochem. Biophys. Res. Comm. 6: 452-457.
- und STRUCK, H. 1961. *Dünnschichtchromatographische Trennung von Nukleinsäure-Derivaten an Cellulose-Schichten*. J. Chromatogr. 6: 365-367.

- SÄGESSER, H. 1960. *Über die Wirkung der Corpora allata auf den Sauerstoffverbrauch bei der Schabe Leucophaea maderae (F.)*. J. Ins. Physiol. 5: 264-285.
- SCHMITZ, H. 1960. *Vorkommen und Bedeutung von freien Nukleotiden in Zellen und Geweben*. In: 11. Coll. der Gesellschaft für physiol. Chemie in Mosbach/Baden, Springer 1961.
- THOMSEN, E. 1942. *An experimental and anatomical study of the corpus allatum in the blow-fly Calliphora erythrocephala Meig.* Vidensk. Medd. dansk. naturh. Foren Kbh. 106: 320-405.
- 1949. *Influence of the corpus allatum on oxygen consumption of adult Calliphora erythrocephala Meig.* J. exp. Biol. 26: 137-172.
- THRELFALL, C. J. 1957. *An analytical procedure for the acid-soluble phosphorus compounds in rat skeletal muscle*. Biochem. J. 65: 694-699.
- VOGT, M. 1947. *Fettkörper und Oenocyten der Drosophila nach Exstirpation der adulten Ringdrüse*. Z. Zellforsch. 34: 160-164.
-